

# Beurteilung der Trainierbarkeit und der momentanen Leistungskapazität mit Hilfe von Muskeluntersuchungen beim Pferd

Autor(en): **Straub, R. / Hoppeler, H. / Dettwiler, M.**

Objektyp: **Article**

Zeitschrift: **Schweizer Archiv für Tierheilkunde SAT : die Fachzeitschrift für Tierärztinnen und Tierärzte = Archives Suisses de Médecine Vétérinaire ASMV : la revue professionnelle des vétérinaires**

Band (Jahr): **124 (1982)**

PDF erstellt am: **21.06.2024**

Persistenter Link: <https://doi.org/10.5169/seals-589608>

## **Nutzungsbedingungen**

Die ETH-Bibliothek ist Anbieterin der digitalisierten Zeitschriften. Sie besitzt keine Urheberrechte an den Inhalten der Zeitschriften. Die Rechte liegen in der Regel bei den Herausgebern.

Die auf der Plattform e-periodica veröffentlichten Dokumente stehen für nicht-kommerzielle Zwecke in Lehre und Forschung sowie für die private Nutzung frei zur Verfügung. Einzelne Dateien oder Ausdrucke aus diesem Angebot können zusammen mit diesen Nutzungsbedingungen und den korrekten Herkunftsbezeichnungen weitergegeben werden.

Das Veröffentlichen von Bildern in Print- und Online-Publikationen ist nur mit vorheriger Genehmigung der Rechteinhaber erlaubt. Die systematische Speicherung von Teilen des elektronischen Angebots auf anderen Servern bedarf ebenfalls des schriftlichen Einverständnisses der Rechteinhaber.

## **Haftungsausschluss**

Alle Angaben erfolgen ohne Gewähr für Vollständigkeit oder Richtigkeit. Es wird keine Haftung übernommen für Schäden durch die Verwendung von Informationen aus diesem Online-Angebot oder durch das Fehlen von Informationen. Dies gilt auch für Inhalte Dritter, die über dieses Angebot zugänglich sind.

Aus der Klinik für Nutztiere und Pferde der Universität Bern  
(Direktor: Prof. Dr. H. Gerber)

## **Beurteilung der Trainierbarkeit und der momentanen Leistungskapazität mit Hilfe von Muskeluntersuchungen beim Pferd**

*Straub R., Hoppeler H., Dettwiler M., Isler R. und Gysin J.*

### **Einleitung**

Eine objektive Beurteilung der Trainierbarkeit und der momentanen Leistungskapazität von Pferden erweist sich als überaus schwierig. Stoffwechselveränderungen erlauben uns jedoch, gewisse Aussagen darüber zu machen, ob die für die Muskelarbeit wichtige Energiebereitstellung aerob bzw. anaerob verläuft. Die Sauerstoffaufnahme- und die aerobe Energiebereitstellung für die arbeitende Muskulatur spielen bei Belastungen, die länger als 2 Minuten dauern, eine entscheidende Rolle. Sie hängen von verschiedenen Faktoren ab, wie zum Beispiel Ventilation, Diffusion, Herzminutenvolumen, Blutmenge, Hämoglobinkonzentration, zelluläre metabolische Kapazität der arbeitenden Muskelzelle, usw. Da es zurzeit beim Pferd noch nicht möglich ist, unter natürlichen Belastungsbedingungen die maximale Sauerstoffaufnahme- und die aerobe Energiebereitstellung zu messen, müssen zur Beurteilung der oxydativen Kapazität der Muskulatur andere Kriterien aus dem Energiehaushalt und der Morphologie der Muskelzelle herangezogen werden.

Das Ziel dieser Untersuchung war es, mit Hilfe von enzymologischen und morphometrischen Untersuchungen einerseits die momentane Leistungsfähigkeit zu beurteilen und andererseits trainingsbedingte Veränderungen festzustellen, um nachträglich etwas über die Trainierbarkeit der einzelnen Probanden aussagen zu können.

### **Material**

Für unsere Studie wurden vom österreichischen Bundeshengststallamt Stadl Paura 6 Halbbluthengste im Alter von 4 bis 5 Jahren ausgewählt (Tabelle 1). Alle Probanden wurden vor Versuchsbeginn während eines Monats unter gleichen Bedingungen gehalten.

### **Methodik**

#### *Tests und Training*

Test A und B wurden durchgeführt, um den aktuellen Trainingszustand der Probanden, mit Hilfe von Geschwindigkeits- und Lactatmessungen, zu erfassen und untereinander zu vergleichen.

---

Korr. Adresse: Dr. Reto Straub, Postfach 2735, CH-3001 Bern

Tabelle 1

6 Junghengste im Alter von 4–5 Jahren, welche auf die Hengstenleistungsprüfung vorbereitet wurden

Nr.	Gb. Nr., Name	Rasse	Geburtsjahr
1	Liz. Lumumba	Österreicher	1975
2	Liz. Sahib	Hannoveraner	1976
3	38 Sperber	Österreicher	1976
4	Liz. Amigo	Hannoveraner	1976
5	Liz. Legal	Hannoveraner	1976
6	Liz. Gazir	Araber	1976

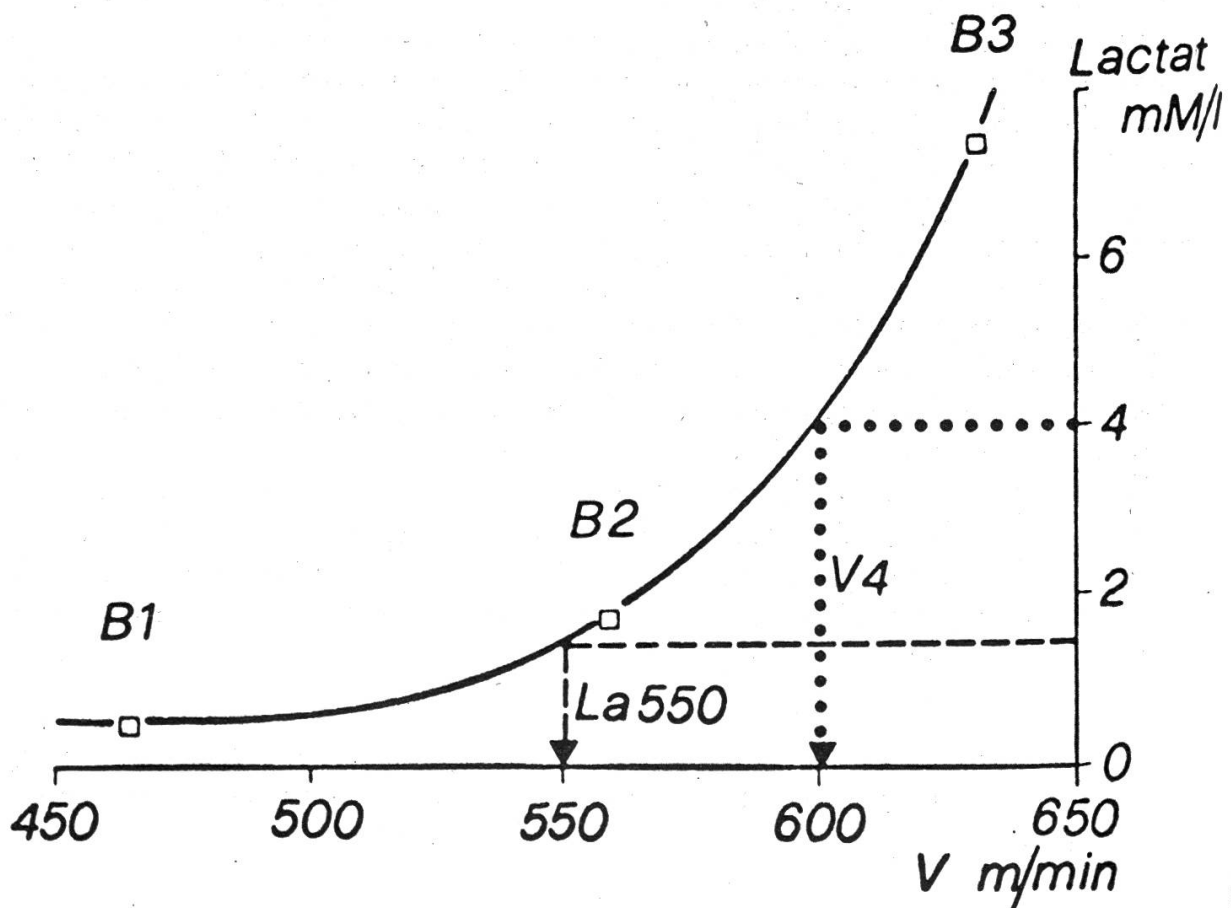


Abb. 1: Blutlactatkurve (Dreistufenbelastungstest) und die daraus resultierenden Leistungskennwerte La550 und V4

Aus der resultierenden Kurve werden die zwei folgenden Grössen abgelesen:

La550 = Lactatkonzentration im Blut bei standardisierter Laufgeschwindigkeit von 550 m pro Minute

V4 = Die erreichbare Laufgeschwindigkeit unter Beibehaltung der Dauerleistungsgrenze bei 4 mMol Lactat pro Liter Plasma

Als Testprogramm wählten wir einen Dreistufenbelastungstest, welcher sich folgendermassen gestaltete:

1. Phase I	1650 m Galopp	Tempo 350–400 m/min
2. Erholungsphase	8 min Schritt	
3. Phase II	1650 m Galopp	Tempo 450–500 m/min
4. Erholungsphase	8 min Schritt	
5. Phase III	1650 m Galopp	Tempo 550–600 m/min
6. Erholungsphase	8 min. Schritt	

Von jedem Pferd wurden die Blutlactatkonzentration und die Laufgeschwindigkeit in einem Diagramm aufgezeichnet. Aus den drei Belastungsphasen können je drei Lactatwerte im Diagramm eingetragen und miteinander verbunden werden (Abb. 1).

Diese beiden Parameter brauchten wir, um die Aussagekraft der Muskeluntersuchungen zur Beurteilung der Trainierbarkeit und der momentanen Leistungsfähigkeit zu prüfen.

Alle 6 Hengste unterzog man zweimal wöchentlich während eines Monats einem Intervalltraining. Das Intervalltraining bestand aus drei Intervallen zu je drei Minuten Dauer, wobei bei der Festlegung der Belastungsintensität die in Test A ermittelte V4 angestrebt wurde.

#### *Messung der Lactatkonzentration im Plasma*

Die Lactatwerte wurden mit dem Monotest R von Böhringer im Plasma bestimmt. Die Methode der Bestimmung beruht auf der enzymatischen Analyse modifiziert nach *Noll (1974)*.

#### *Muskeluntersuchungen*

##### *Biopsieentnahme und Aufbewahrung*

Die Biopsieentnahme nach *Bergström (1975)* erfolgte am *M. semitendineus* jeweils ca. 5 Stunden nach den Tests. Zur Vorbereitung der Entnahmestelle wurde eine Fläche von ca. 4 cm<sup>2</sup> rasiert, keimarm gemacht (Betadine®), Haut und Faszie mit 1–2 ml 2% Lidocainlösung anästhesiert und die Haut mit einem spitzen Skalpell inzidiert. Die entnommenen Muskelstückchen (bis ca. 30 mg Gewicht) wurden für die biochemischen Untersuchungen sofort in flüssigem Stickstoff (–196 °C) gefroren oder für die morphometrischen Studien in Glutaraldehyd fixiert und kühl aufbewahrt.

##### *Morphometrie*

###### *Mitochondrienvolumen in undifferenzierten Fasern:*

Die Fixation und Zubereitung der Muskelstückchen für das Elektronenmikroskop erfolgte nach der Methode von *Hoppeler et al. (1973)*. Von jeder Biopsie wurden zwei Blöcke geschnitten und je sechzehn Aufnahmen angefertigt (Philips EM 200, ca. 25 000fache Endvergrößerung). Die Morphometrie wurde nach *Weibel (1969)* durchgeführt.

###### *Fasertypen und deren Mitochondrienvolumen:*

Zur Ermittlung des Mitochondrienvolumens bezogen auf die verschiedenen Fasertypen wurden die Fasertypen zuerst histochemisch differenziert und danach nach der Methode *Claassen et al. (1980 a und b)* für die Morphometrie präpariert.

###### *Kapillardichte:*

Zur Ermittlung der Kapillardichte gingen wir nach *Hoppeler et al. (1981)* vor (Fixation und Zubereitung wie für Mitochondrienvolumen).

##### *Enzymologie*

###### *Histochemie:*

Für die histochemischen Untersuchungen wurden die im flüssigen Stickstoff gefrorenen Muskelproben weiterverarbeitet: Zur Fasertypisierung benutzten wir die Myosin-ATP-ase Färbung bei saurer und basischer Vorinkubation (*Padykula und Herman, 1955 a und b; Straub, 1981*):



**Vorinkubation**

- a) basisch: 15 Minuten in basischer Lösung pH 10,5 bei 38 °C,  
 b) sauer: 10 Minuten in saurer Lösung pH 4,5 bei Zimmertemperatur (20 °C).

**Lösung**

- a) basisch: Glycin (0,1 M) × 1, Natrium-Calciumchlorid (NaCl 0,1 M, CaCl<sub>2</sub> 0,065 M × 2 H<sub>2</sub>O; 1:1). Diese Substanzen wurden in aufgekochtem H<sub>2</sub>O-bidest gekocht. Mischen der beiden Substanzen zu gleichen Teilen.  
 b) sauer: Kaliumacetat (0,06 M) und Kaliumchlorid (0,01 M) zu gleichen Teilen.

Die Vorinkubationslösungen wurden mit normaler Kalilauge auf die gewünschten pH titriert.

**Auswaschen**

Während 30 Sekunden im Auswaschmedium:  
 Glycin (40 mM), Calciumchlorid × 2 H<sub>2</sub>O (20 mM) bei pH 9,4.

**Inkubation**

Gewebe in 10 ml Inkubationsmedium (Glycin (40 mM), Calciumchlorid × 2 H<sub>2</sub>O (20 mM) bei pH 9,7 während 15 bis 20 Minuten bei 37 °C inkubiert. Zu den 10 ml Inkubationsmedium wird 15 mg ATP (Adenosintriphosphat; Trinatriumsalz (Böhringer)) zugegeben. Das zugegebene ATP senkt das pH auf 9,4.

Nach der Inkubation erfolgt ein 3 × 30 Sekunden dauerndes Auswaschen mit einer 1%igen Calciumchloridlösung (CaCl<sub>2</sub> × 2 H<sub>2</sub>O). Anschliessend wird in einer 2%igen Kobaltchloridlösung (CoCl<sub>2</sub>) während 3 Minuten inkubiert und anschliessend während 1 Minute in fliessendem Aquabidest ausgewaschen. Danach inkubiert man in einer zweiten Phase das Muskelgewebe in 1%igem Ammoniumsulfid während 30 Sekunden und spült anschliessend mit fliessendem Aquabidest. Vor dem Einbetten werden die Muskelschnitte in aufsteigender Alkoholreihe entwässert.

**Enzymaktivitäten im Homogenat:**

Es wurden folgende Enzymaktivitäten des Muskels gemessen: Glycerinaldehyd-3-P-Dehydrogenase (E.C. 1.2.1.12), Malat-Dehydrogenase (E.C. 1.1.1.37), Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase (E.C. 1.1.1.35) und Pyruvatdecarboxylase (E.C. 4.1.1.1).

Vorbereitung der Homogenate aus den Biopsien zur Enzymaktivitätsmessung (Dettwiler, 1981):

Die tiefgefrorenen Proben werden bei Zimmertemperatur aufgetaut. Das Muskelstück wird in ein 1 ml Teflon-Homogenisator-Röhrchen, welches 0,5 ml 0,1 M K-Phosphatpuffer pH 7,3 enthält, gegeben. Mit einem Teflon-Pistill wird die Probe bei 4 °C von Hand homogenisiert. Nach Zentrifugation wird der Überstand abgehoben und in einem Glasgefäss sofort tiefgefroren.

**Nachweis der Glycerinaldehyd-3-P-Dehydrogenase (E.C. 1.2.1.12)**

Aktivitätsmessungen nach Velick und Furfine (1963), Wu und Racker (1963).

**Prinzip:**

Durch Ankoppeln von Phosphoglyceratkinase (PGK) als Hilfsenzym genügt es, spektrophotometrisch die Reduktion von 3-Phosphoglycerinsäure (PGS) zu 3-Phosphoglycerinaldehyd (GAP) zu verfolgen:



## Reagenzien (pro 1 ml Ansatz)

Menge (ml)	Komponente	Endkonz. (mMol)
0,77–0,775	Trisäthanolamin-HCl (0,05 M, pH 7,4)	37
0,05	L-Cystein · HCl (0,1 M)	5
0,05	KOH (0,1 M)	5
0,02	Mg-K-EDTA (0,325 M, pH 6,7)	6,5
0,05	22 mM ATP (in 0,05 M Na-Pyrophosphat-Lösung, pH 8,5 gelöst)	1,1
0,03	Phosphoglycerinsäure (0,107 M)	3,2
0,02	13,1 mM NADH (in Trisäthanolaminpuffer pH 7,6 aufgelöst)	0,26
0,001–0,005	Homogenat	

Nach Hinzupipettieren wird gut gemischt und die Reaktion nach 2 Minuten Vorinkubation bei 25 °C durch Zumischen von 0,005 ml 3-Phosphoglyceratkinase gestartet. Die Änderung der optischen Dichte soll nach Ablauf einer autokatalytischen Anlaufphase für die nächsten 2 Minuten linear verlaufen (*Ellenrieder et al.*, 1972).

## Berechnung der Aktivität

Durch Umrechnung von  $OD_{366} \cdot \text{Min}^{-1}$  auf die Konzentration  $\text{NADH} \cdot \text{Min}^{-1}$  ergibt sich:

$$A = \frac{OD_{366} \cdot \text{Min}^{-1} \times \text{Testvolumen}}{E_{366} \times d \times \text{Probevolumen}} \times \text{Verdünnung (IU/ml) der Probe}$$

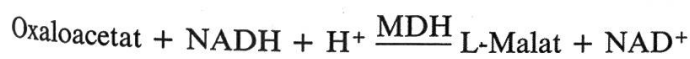
$$E_{366}^{\text{NADH}} = \text{molarer Extinktionskoeffizient für NADH bei 366 nm} = 3,3 \text{ (mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}\text{)}$$

## Nachweis der Malat-Dehydrogenase (E.C. 1.1.1.37)

Aktivitätsmessung nach *Wolfe and Neilands* (1956) und *Kun* (1963):

## Prinzip:

Die Reduktion von Oxaloacetat durch NADH zu L-Malat wird spektrophotometrisch erfasst:



## Reagenzien (pro 1 ml Ansatz)

Menge (ml)	Komponente	Endkonz. (mM)
0,945–0,950	Phosphatpuffer (0,11 M; pH 7,5)	14
0,03	Oxaloacetatlösung (15 mM)	0,5
0,02	NADH-Lösung (12 mM)	0,2

Nach Mischen, 2 Minuten Vorlauf des Schreibers und Thermostatisierung der Lösung bei 25 °C, wird das Homogenat (1–5 µl) hinzupipettiert und die Aktivität bei 366 nm verfolgt.

## Berechnung der Aktivität

$$A = \frac{OD_{366} \cdot \text{Min}^{-1} \times \text{Testvolumen}}{E_{366} \times d \times \text{Probevolumen}} \times \text{Verdünnung (IU/ml) der Probe}$$

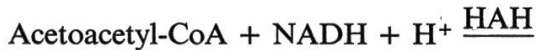
1 U = 1  $\mu\text{M}$  NADH  $\cdot$  H  $\cdot$  Min<sup>-1</sup> (bei 25 °C, pH 7,5)

$E_{366}^{\text{NADH}}$  = molarer Extinktionskoeffizient für NADH bei 366 nm = 3,3 (mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)

*Nachweis der Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase (E.C. 1.1.1.35)*  
Aktivitätsmessung nach *Lynen und Wieland* (1955).

Prinzip:

Die Reduktion von Acetoacetyl-CoA durch NADH zu L-3-Hydroxybutyryl-CoA wird spektrophotometrisch erfasst:



Reagenzien (pro 1 ml Ansatz)

Menge (ml)	Komponente	Endkonz. (mM)
0,920–0,940	Pyrophosphatpuffer (0,1 M; pH 7,3)	~ 93
0,015	NADH (14 mM)	0,21
0,035	Acetoacetyl-CoA (10 mM)	0,35

Lösung in der Küvette gut mischen, 3 Minuten bei 25 °C standardisieren, 10–30  $\mu\text{l}$  Homogenat zugeben, nach 1–2 Minuten Aktivität bei 340 nm messen.

Berechnung der Aktivität

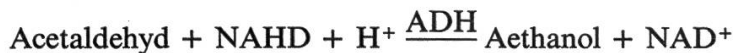
$$A = \frac{\text{OD}_{340} \cdot \text{Min}^{-1} \times \text{Testvolumen}}{E_{340} \times d \times \text{Probevolumen}} \times \text{Verdünnung (IU/ml) der Probe}$$

$E_{340}^{\text{NADH}}$  = molarer Extinktionskoeffizient für NADH bei 340 nm = 6,22 (mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)

*Nachweis der Pyruvatdecarboxylase (E.C. 4.1.1.1)*  
Aktivitätsmessung nach *Ullrich et al.* (1966), *Utter* (1961), *Singer und Pensky* (1952).

Prinzip:

Pyruvat wird umgesetzt zu Acetaldehyd. Die Reduktion von Acetaldehyd zu Aethanol kann spektrophotometrisch verfolgt werden:



Reagenzien (pro 1 ml Ansatz)

Menge (ml)	Komponente	Endkonz. (mM)
0,89	Citratpuffer (0,2 M; pH 6,0)	0,186 M
0,1	Pyruvat, Na-Salz (100 mg/ml)	30 mM
0,08	NADH, Na-Salz (10 mg/ml)	0,32 mM
0,01	ADH (Hefe)	33 $\mu\text{g/ml}$
0,02	Homogenat	

*Proteinbestimmung*

Bestimmung nach der Methode von *Lowry et al.* (1950) und *Hartree* (1973). Als Standardprotein für die Eichgerade diente BSA.

Spezifische Aktivität (sp. A) = Enzymaktivität bezogen auf 1 mg Protein des Homogenates.

*Chemikalien für Enzymaktivitätsmessungen*

Hersteller: Produkt:

Merck: Folin Ciocalteu Phenolreagens;  
Trisaethanolamin;  
L-Cystein;  
Magnesium-Titriplex-Trihydrat.

Behring: Bovines Serum Albumin (BSA)

Hersteller: Produkt:

Boehringer: ATP;  
Phosphoglycerinsäure;  
NADH;  
3-Phosphoglyceratkinase;  
Oxaloacetat.

**Resultate****Resultate von Test A**

*Belastungsintensität- und Lactatmessungen.* Die  $V_4$ - und  $La_{550}$ -Werte gehen aus Tabelle 2 hervor.

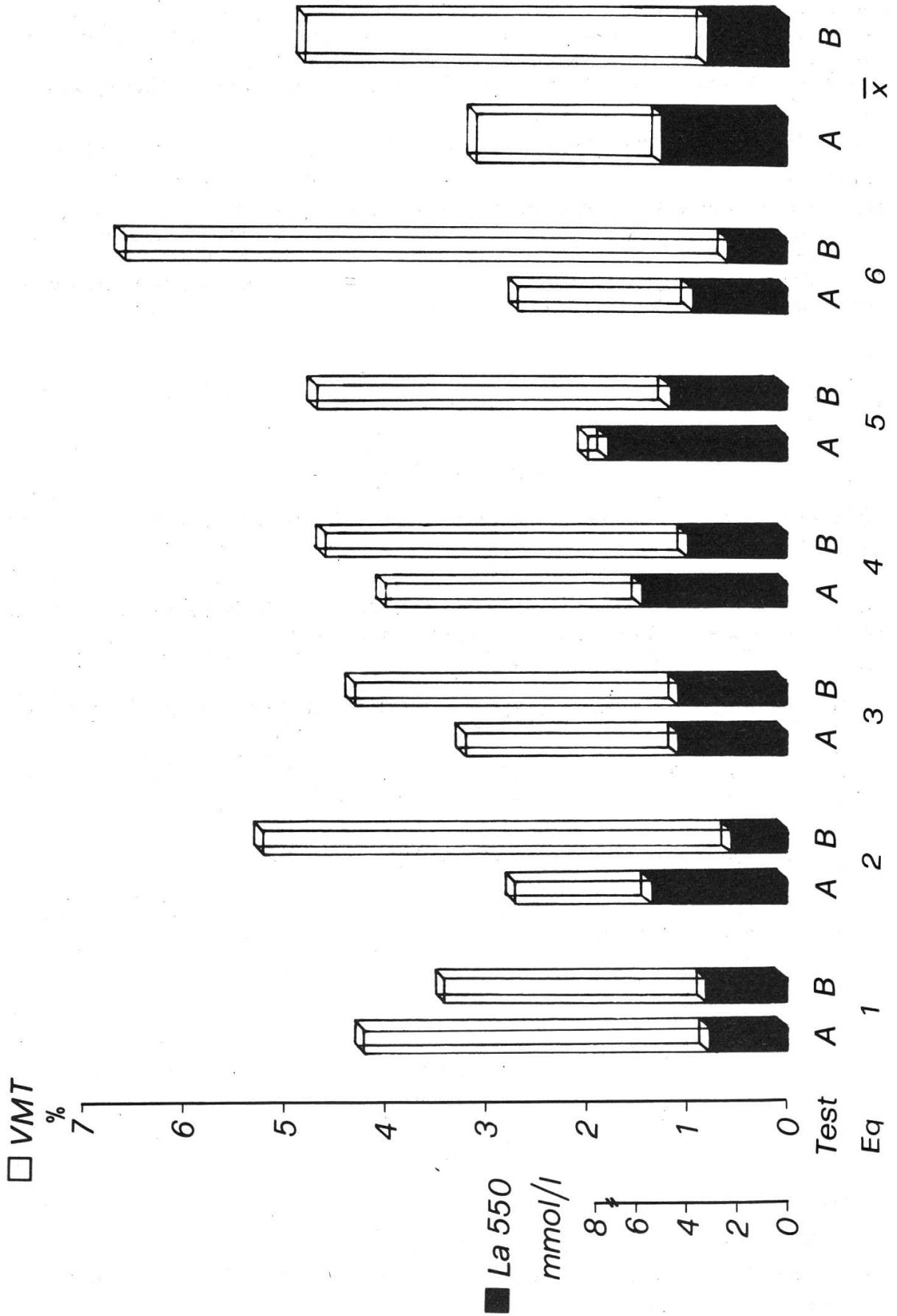
Tabelle 2:  $La_{550}$  und  $\Delta La_{550}$  (mM/l),  $V_4$ , das totale Mitochondrienvolumen (VMT) und die Mitochondrienvolumenzunahme absolut ( $\Delta$ VMT) und in Prozenten (% $\Delta$ VMT)

Gruppe I								
Nr.	Test	$La_{550}$	$\Delta La_{550}$	$V_4$	VMT	$\Delta$ VMT	% $\Delta La_{550}$	% $\Delta$ VMT
1	A	3,1		573	4,2			
	B	3,2	+ 0,1	573	3,4	- 0,8	+ 0,32	- 19
2	A	5,3		535	2,7			
	B	2,2	- 3,1	583	5,2	+ 2,5	- 58	+ 92
5	A	8,4		472	2,0			
	B	4,7	- 3,7	536	4,7	+ 2,7	- 44	+ 135
3	A	4,3		545	3,2			
	B	4,3	0	542	4,3	+ 1,1	0	+ 34
4	A	5,8		514	4,0			
	B	4,0	- 1,8	550	4,6	+ 0,6	- 31	+ 15
6	A	3,8		553	2,7			
	B	2,4	- 1,4	596	6,6	+ 3,9	- 37	+ 144

*Muskeluntersuchungen**Morphometrie*

Mitochondrienvolumen in undifferenzierten Muskelfasern:

Das totale Mitochondrienvolumen (VMT) wurde von allen Pferden ermittelt. Es geht aus der Tabelle 2 hervor. In der Abbildung 2 wird die Beziehung des VMT zu



La550 graphisch dargestellt. Zum Zeitpunkt von Test A zeigte das Pferd Nr. 1 den prozentual grössten Anteil VMT (4,2%), gefolgt von Pferd Nr. 4 (4,0%), Nr. 3 (3,2%), Nr. 6 und Nr. 2 (je 2,7%) und Nr. 5 (2,0%). Bei allen Pferden konnten nur sehr geringe Fettreserven in den Muskeln gefunden werden.

Fasertypen und deren Mitochondrienvolumen:

Die Bestimmung der VMT bezogen auf die Fasertypen wurden bei den Pferden Nr. 2 und Nr. 6 durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 zu finden. Fasertyp I nimmt den grössten prozentualen Anteil an Mitochondrien in Anspruch und wird gefolgt von Fasertyp IIA und IIB. Die gefundenen VMT sind mit denen von *Straub* (1981) vergleichbar.

Tabelle 3: Totale Mitochondrienvolumina (VMT) in Prozenten und trainingsbedingte totale Mitochondrienvolumenänderungen in Prozenten ( $\Delta$ VMT%) in den Fasertypen I, IIA und IIB des M.semitendineus der Pferde Nr. 2 und Nr. 6

Pferd	Fasertyp	Test A	Test B	$\Delta$ VMT%
Sahib Nr. 2	I	6,9	7,5	+ 8,7
	IIA	6,7	8,5	+ 26,9
	IIB	2,9	2,2	- 24,1
Gazir Nr. 6	I	7,8	12,8	+ 64,1
	IIA	5,9	9,4	+ 59,3
	IIB	3,7	4,5	+ 21,6

Tabelle 4: Anzahl Kapillaren pro Faser ( $N_n(c,f)$ ), Faserquerschnittsfläche pro Kapillare ( $\bar{a}(f)$ ; mm<sup>2</sup>) Faserquerschnittsfläche (AF/NF;  $\mu^2$ ) und Kapillardurchmesser (D;  $\mu$ ) im M.semitendineus, vor (A) und nach (B) der Trainingsperiode (Mittelwerte und Standardabweichung)

Gruppe I									
Pferd	Nr.	$N_n(c,f)$		$\bar{a}(f)$		AF/NF		D	MICR
		A	B	A	B	A	B	A	B
Lumumba	1	3,3	7,5	504	574	6623	13087	92	129
		0,1	0,2	0,08	0,09	0,1	0,2		
Sahib	2	3,2	6,6	549	478	5892	13868	87	133
		0,09	0,1	0,07	0,09	0,09	0,09		
Sperber	3	3,7	4,7	470	458	7838	10296	100	114
		0,1	0,2	0,06	0,06	0,1	0,2		
Amigo	4	2,8	5,4	360	509	7676	10586	99	118
		0,1	0,1	0,07	0,08	0,1	0,1		
Legal	5	3,4	5,1	429	485	7917	10566	100	116
		0,2	0,08	0,08	0,08	0,2	0,1		
Gazir	6	2,9	2,5	355	445	8088	5647	101	85
		0,08	0,06	0,05	0,08	0,09	0,1		

Kapillaren:

Bei der Kapillarzählung wurde sowohl die Kapillarisation (Kapillaren pro Faser:  $N_n(c,f)$ ) als auch die Kapillardichte (Anzahl Kapillaren pro Fläche:  $a(f)$ ) bestimmt.

Die Kapillarisation und die Kapillardichte des *M. semitendineus* im Zeitpunkt A gehen aus der Tabelle 4 hervor. Auffällig sind vor allem die extrem grossen mittleren Faserquerschnittsflächen, die höchstwahrscheinlich auf nicht optimale Querschnitte zurückgeführt werden können. Mit dieser Methode gefundene Faserquerschnittsflächen sind durchschnittlich um einen Faktor von 3,4 grösser als die von *Straub* (1981) beschriebenen Faserquerschnittsflächen im *M. semitendineus*.

### Enzymologie

*Histochemie.* Mit Hilfe der ATP-ase-Färbung untersuchten wir die Muskelfasertypen (I, IIA und IIB) folgender Pferde: Nr. 1, Nr. 2 und Nr. 6. Die Resultate gehen aus Tabelle 5 hervor. Auffallend ist der hohe prozentuale Anteil der Typ I Fasern bei Pferd Nr. 6.

Tabelle 5: Prozentualer Fasertypenanteil der Pferde Nr. 1, Nr. 2 und Nr. 6. Myosin-ATP-ase Färbung bei Vorinkubations-pH 4,5 und 10,5

Nr.	pH	Test A				Test B			
		I	A	II	B	I	A	II	B
1	10,5	14		86		8		92	
	4,5	9	53		38	7	53		40
2	10,5	6		94		8		92	
	4,5	6	40		54	8	46		46
6	10,5	27		73		—		—	
	4,5	27	50		23	—	—		—

### Muskelenzymaktivitätsbestimmungen:

Die Muskelenzymaktivitäten wurden bei sämtlichen Pferden bestimmt. Folgende Enzyme wurden für die Untersuchungen ausgewählt: Glycerinaldehyd-3-Dehydrogenase aus der Glykolyse, Malatdehydrogenase aus dem Citratcyclus und Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase aus der  $\beta$ -Oxydation der freien Fettsäuren. Zusätzlich wurde die Aktivität der Pyruvatdecarboxylase gemessen. Dieses Enzym schleust Pyruvat in den Citratcyclus ein. Die Resultate gehen aus den Tabellen 6 und 7 hervor.

Im Zeitpunkt A weist Pferd Nr. 2 die höchste MDH- (4,0 U/mg) und HAD- ( $28,0 \times 10^{-3}$  U/mg) Aktivität auf, Pferd Nr. 3 zeigt die niedrigsten Aktivitäten der MDH (2,3 U/mg) und der HAD ( $13,0 \times 10^{-3}$  U/mg). Die höchste GAPDH-Aktivität zeigt Pferd Nr. 5 (10,7 U/mg), die niedrigste hat Pferd Nr. 6 (3,7 U/mg). Auffällig ist, dass bei Pferd Nr. 6 keine Pyruvatdecarboxylaseaktivität gemessen werden konnte.

### Resultate von Test B

*Belastungsintensitäts- und Lactatmessungen.* Die V4- und La550-Werte gehen aus Tabelle 2 hervor.



Tabelle 6: Spezifische Aktivitäten (U/mg) der Enzyme Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (GAPDH), Malat-Dehydrogenase (MDH),  $\beta$ -Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase (HAD) und Pyruvatdecarboxylase (PDC) vor (A) und nach (B) Training und absolute und prozentuale Aktivitätsunterschiede zwischen Test A und B

Nr.	Test	Spezifische Enzymaktivität										Prot. Biopsie mg/ml	mg		
		MDH	$\Delta$ abs.	$\Delta$ %	HAD ( $\times 10^{-3}$ )	$\Delta$ abs.	$\Delta$ %	GAPDH	$\Delta$ abs.	$\Delta$ %	PDC			$\Delta$ abs.	$\Delta$ %
1	A	3,1	+0,9	+29	19,9	+10,2	+51	6,1	+1,7	+28	0,87	-0,53	-61	3,22	19
	B	4,0			30,1			7,8			0,34			6,4	32
2	A	4,0	-0,4	-10	28,0	-12,1	-43	8,8	+2,2	+25	1,0	-0,6	-60	1,61	7
	B	3,6			15,9			11,0			0,4			5,46	28
3	A	2,3	+0,4	+17	13,0	-3,6	-28	7,5	+0,9	+12	0,18	-0,12	-66,6	7,06	28
	B	2,7			9,4			8,4			0,07			5,94	36
4	A	3,5	+0,6	+17	24,3	-6,3	-26	8,0	+1,4	+17	0,36	+0,11	+30,5	5,52	24
	B	3,1			18,0			9,4			0,47			3,61	19
5	A	3,2	+0,5	+15	16,0	-2,6	-16	10,7	-0,8	-7	0,55	+0,27	+49	1,1	5
	B	3,7			13,4			9,9			0,82			2,31	14
6	A	2,5	+4,2	+168	15,5	+19,9	+128	3,7	+4,1	+111	0	0	0	5,3	20
	B	6,7			35,4			7,8			0			1,58	15



Tabelle 7: Rangliste anhand  $V_4$  (m/min),  $La_{550}$  (mMol/l),  $La_{550}$  (mMol/l), dem prozentualen Mitochondrienvolumenanteil und der Enzymaktivitäten (U/mg)

$V_4$		$La_{550}$		VMT		MDH		HAD ( $\times 10^{-3}$ )		GAPDH						
Rang	Pferd	Nr.	abs.	%	Pferd	Nr.	abs.	%	Pferd	Nr.	abs.	%				
Rangliste nach Stufenbelastungstest A																
1	573	1	3,1		1	4,2	2	4,0	2	28,0	5	10,7				
2	553	6	3,8		4	4,0	4	3,5	4	24,3	2	8,8				
3	545	3	4,3		3	3,2	5	3,2	1	19,9	4	8,0				
4	535	2	5,3		6	2,7	1	3,1	5	16,0	3	7,5				
5	514	4	5,8		2	2,7	6	2,5	6	15,5	1	6,1				
6	472	5	8,4		5	2,0	3	2,3	3	13,0	6	3,7				
Trainingsbedingte Verbesserung																
1	5	+64	+13	5	-3,7	-44	6	+3,9	+144	+4,2	+168	+19,9	+128	6	+4,1	+111
2	2	+48	+9	2	-3,1	-58	5	+2,7	+135	+0,9	+29	+10,2	+51	2	+2,2	+25
3	6	+43	+7	4	-1,8	-37	2	+2,5	+92	+0,6	+17	-2,6	-16	1	+1,7	+17
4	4	+36	+7	6	-1,4	-37	3	+1,1	+34	+0,5	+15	-3,6	-28	4	+1,4	+12
5	1	0	0	3	0	0	4	+0,6	+15	+0,4	+17	-6,3	-26	3	+0,9	+1
6	3	0	0	1	+0,1	0	1	-0,8	-19	-0,4	-10	+12,1	-43	5	-0,8	-1
Rangliste nach Stufenbelastungstest B																
1	6	596	2	2,2	6	6,6	6	6,7	6	35,4	2	11,0				
2	2	583	6	2,4	2	5,2	4	4,1	1	30,1	5	9,9				
3	1	573	1	3,2	5	4,3	1	4,0	4	18,0	4	9,4				
4	4	550	4	4,0	4	4,6	5	3,7	2	15,9	3	8,4				
5	3	542	3	4,3	3	4,7	2	3,6	5	13,4	1	7,8				
6	5	536	5	4,7	1	3,4	3	2,7	3	9,4	6	7,8				

## Muskeluntersuchungen

### Morphometrie

#### Mitochondrienvolumen in undifferenzierten Muskelfasern:

Der prozentuale Anteil des totalen Mitochondrienvolumens wurde bei allen Pferden ermittelt (Tabelle 2). In Abbildung 2 werden VMT und La550 einander gegenübergestellt. Zwischen der trainingsbedingten VMT-Zunahme resp. La550-Abnahme besteht eine negative Korrelation ( $r = 0,720$ ). Das Pferd Nr. 6 hatte mit 6,6% nach dem Training den prozentual grössten Anteil VMT, gefolgt von Pferd Nr. 2 (5,2%), Nr. 5 (4,7%), Nr. 4 (4,6%), Nr. 3 (4,3%) und Pferd Nr. 1 mit 3,4%. Das VMT von Pferd Nr. 1 hat während der Versuchsperiode sogar um 0,8 (19%) abgenommen. Alle übrigen Pferde zeigen nach Training ein erhöhtes VMT. Auch nach Training war die intrazelluläre Fettreserve bei allen Pferden sehr gering.

#### Mitochondrienvolumen und Fasertypen:

Die Bestimmung der VMT bezogen auf die Fasertypen wurden wie nach Test B bei den Pferden Nr. 2 und Nr. 6 durchgeführt. Die Ergebnisse sind aus Tabelle 3 ersichtlich. Um die Mitochondrienvolumenzunahme im Gesamtmuskel und in den einzelnen Fasertypen untereinander zu vergleichen, wurde zusätzlich die Faserquerschnittsfläche von Pferd Nr. 2 vor und nach der Trainingsperiode errechnet. Der Flächenanteil von Fasertyp I hatte um 220% und der von Typ IIA um 11% zugenommen, der von Typ IIB hat um 15% abgenommen.

#### Kapillaren:

Die Kapillarisation und die Kapillardichte des M.semitendineus gehen aus der Tabelle 4 hervor. Die extrem grossen Faserquerschnittsflächen sind höchstwahrscheinlich wie bei den Untersuchungen nach Test A auf nicht optimale Querschnitte zurückzuführen. Die Kapillarisation im M.semitendineus ist nach Training signifikant höher ( $p > 0,05$ ).

### Enzymologie

#### Histochemie:

Mit Hilfe der ATP-ase-Färbung wurden die Muskelfasertypen (I, IIA und IIB) der Pferde Nr. 1, Nr. 6 und Nr. 2 untersucht. Die Resultate gehen aus Tabelle 5 hervor. Im Vergleich zu Test A ist bezüglich Fasertypenzusammensetzung keine wesentliche Veränderung festzustellen.

#### Muskelenzymaktivitätsbestimmungen:

Nach dem Training wurden in Test B bei allen Pferden die Enzymaktivitäten der Glyceraldehyd-6-P-Dehydrogenase, der Malatdehydrogenase, der Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase und der Pyruvatdecarboxylase bestimmt.

Die Resultate gehen aus den Tabellen 6 und 7 hervor.

Pferd Nr. 6 weist die höchste MDH- (6,7 U/mg) und HAD- ( $35,4 \times 10^{-3}$  U/mg), Pferd Nr. 3 die geringste MDH- (2,7 U/mg) und HAD- ( $9,4 \times 10^{-3}$  U/mg) Aktivität auf. Bei der GAPDH weist Pferd Nr. 2 (11,0 U/mg) die höchste, Pferd Nr. 1

und Nr. 6 (7,8 U/mg) die niedrigste Aktivität auf. Auch im Zeitpunkt B konnte bei Pferd Nr. 6 keine Pyruvatdecarboxylaseaktivität gemessen werden.

In der Tabelle 7 werden die Enzymaktivitäten den Parametern V4, La550 und VMT gegenübergestellt und eine «Rangliste» innerhalb der Gruppe erstellt.

### Diskussion

Das Ziel unserer Untersuchung bestand darin, die momentane Leistungskapazität unserer Probanden und die trainingsbedingten Veränderungen in der Muskelzelle möglichst objektiv zu beurteilen und gewisse Rückschlüsse auf die Trainierbarkeit der Pferde zu ziehen.

Die Lactatkonzentration im Blut gibt uns wichtige Hinweise auf den momentanen Stoffwechsel der arbeitenden Muskulatur und ist zusammen mit der Laufgeschwindigkeit ein nützliches Beurteilungskriterium für das oxydative Leistungsvermögen des Pferdes. Aus diesem Grund wählten wir V4 und La550 als Bezugsgrößen, um die momentane Leistungskapazität und die Aussagekraft der trainingsbedingten Muskelveränderungen zu beurteilen.

Die Mitochondrienvolumenanteile in der Muskelzelle wurden bei sämtlichen Pferden im M. semitendineus bestimmt; dieser Muskel ist für die gewählte Biopsiemethode am geeignetsten (Straub *et al.*, 1975 und 1976; Straub, 1981), da er für den Operateur gut zugänglich ist und als Extensor im Sprunggelenk und als Flexor im Kniegelenk eine typische Bewegungsfunktion ausübt. Untersuchungen am Menschen (Howald *et al.*, 1975) zeigten, dass gut trainierte Läufer im Vergleich zu untrainierten Probanden signifikant mehr interfibrilläre und subsarkolemmale Mitochondrien aufwiesen. Zudem wurde eine Vergrößerung der Mitochondrienoberfläche und der Cristae festgestellt. Straub *et al.* (1975) und Straub (1981) stellten Untersuchungen am M. semitendineus beim Pferd an; auch sie konnten bestätigen, dass ihre ausdauertrainierten Probanden einen höheren Mitochondrienvolumenanteil besaßen als die untrainierten. Im Gegensatz zu den oben erwähnten Untersuchungen wurden bei unserem Versuch die Messungen an derselben Gruppe vor und nach einer Trainingsperiode durchgeführt. Dabei konnten wir bei sämtlichen Pferden, ausser bei Pferd Nr. 1, eine deutliche Zunahme des Mitochondrienvolumens feststellen. Die durchschnittliche Zunahme um 67% ist um so erstaunlicher, als diese Pferde nur während vier Wochen einem Intervalltraining unterworfen waren. Bei der Erhöhung der Mitochondrienvolumenanteile ist einerseits mit einer erhöhten oxydativen Kapazität der Muskelzelle zu rechnen und andererseits wird der Diffusionsweg für Sauerstoff und andere Substrate zu den energieumsetzenden Zentren der Zelle verkürzt. Die negative Korrelation zwischen VMT-Zunahme und La550-Abnahme nach unserer kurzen Trainingsperiode deutet darauf hin, dass mit Hilfe morphologischer Untersuchungen Aussagen über die Trainierbarkeit der oxydativen Kapazität der einzelnen Individuen gemacht werden können. Im Gegensatz zu den Verhältnissen beim ausdauertrainierten Menschen, der grössere Mengen an intrazellulären Fettdepots aufweist, konnte Straub (1981) bei seinen Untersuchungen am Pferd keine wesentlichen Fettreserven in der Muskelzelle finden. In der vorliegenden Studie konnten diese Beob-

achtungen bestätigt werden. Dies kann darauf hindeuten, dass beim Pferd die Energiebereitstellung eher aus der Glykolyse als aus dem Lipidstoffwechsel erfolgt, was sich wiederum mit den Aussagen von *Lindholm et al.* (1974) und *Snow and Guy* (1979) deckt, die im Pferdemuskel im Vergleich zu anderen Spezies extrem reiche Glykogenreserven gefunden haben.

Wie schon *Claassen et al.* (1980) und *Straub* (1981) feststellten, sind die Übergänge zwischen den Mitochondrienvolumenanteilen in verschiedenen Fasertypen fließend. Interessiert hat uns in dieser Studie, welche Fasertypen am deutlichsten mit einer Vergrößerung des VMT auf ein Intervalltraining reagieren. Ungeachtet des Fasertyps wurden bei Pferd Nr. 2 eine VMT-Zunahme um 92%, bei Pferd Nr. 6 eine Zunahme von 144% nachgewiesen. Im Vergleich zu den Zunahmen in den Einzelfasern scheinen diese Zahlen sehr hoch. Bei den Einzelfaseruntersuchungen fanden wir bei Pferd Nr. 2 eine Zunahme des VMT in Fasertyp IIA um 27%, im Typ I um 10% und eine Abnahme um 24% im Typ IIB. Bei Pferd Nr. 6 wurde eine Zunahme im Fasertyp I um 64%, im Typ IIA um 65% und im Typ IIB um 21% festgestellt. Beide Zunahmen, sowohl die Gesamtzunahme als auch die in der Einzelfaser, können bei Pferd Nr. 2 miteinander verglichen werden, da wir bei Typ I einerseits eine Vergrößerung der Querschnittsfläche um 220% und bei Typ IIA um 11% und andererseits bei Typ IIB eine Verkleinerung der Fläche um 15% errechnen konnten. Die Zukunft wird zeigen, ob solch grosse individuelle Unterschiede in der Volumenzunahme der Mitochondrien der Einzelfasern die Regel oder die Ausnahme sind und ob sie für die Beurteilung des Trainingserfolgs von Bedeutung sind.

Mit den histochemischen Färbemethoden kann man heute mindestens vier verschiedene Fasertypen unterscheiden:

Typ I, Typ IIA, Typ IIB und Typ IIC (*Essén et al.*, 1980; *Straub*, 1981). Unsere histochemischen Untersuchungen führten wir mit der Myosin-ATP-ase-Färbung durch. Aufgrund labortechnischer Schwierigkeiten und Artefaktbildung in den Muskelschnitten konnten lediglich die Muskeln der Pferde Nr. 1 und Nr. 2 vor und nach Training untersucht werden. Der prozentuale Anteil der Typ I resp. Typ II-Fasern blieb durch das Training mehr oder weniger unbeeinflusst. Der grosse Unterschied zwischen der alkalischen und der sauren Vorinkubationsmethode nach Test A bei Pferd 1 ist unverständlich. Der Typ I Anteil bei Pferd Nr. 6 nach Test A weicht stark von den bei anderen Halbblutpferden gefundenen Werten ab (*Straub*, 1981). Die durch Biopsie-, Färbe- und Gefrierartefakte hervorgerufenen Unterschiede bei der histochemischen Muskeluntersuchung lassen diese Untersuchungen der Muskeln des Pferdes vor und nach einer Trainingsperiode als wenig nützlich erscheinen.

Die Enzymaktivitäten wurden nach einer Modifikation von *Dettwiler* (1981) im abzentrifugierten Überstand des Muskelhomogenats gemessen und nicht wie bisher im Gesamthomogenat selbst. Für unsere Messungen verfügen wir vorläufig über keine Vergleichswerte, und wir können somit nur die Veränderungen der Enzymaktivitäten durch Training objektiv beurteilen.

Die GAPDH ist im Zytoplasma der Zelle lokalisiert. In den Muskeln sämtlicher Pferde, ausser dem Pferd Nr. 5 (-7%), konnte nach dem Training eine Aktivitätssteigerung gemessen werden. Die von uns gemessenen Aktivitätserhöhungen der



GAPDH durch Training stehen im Widerspruch zu den von *Straub et al.* (1976) durchgeführten Untersuchungen, bei denen Muskeln trainierter Probanden eine tiefere GAPDH-Aktivität aufwiesen als die der untrainierten. Für den Menschen wurden beim Ausdauertrainierten ungefähr gleiche Aktivitäten gemessen wie beim Untrainierten (*Moesch und Howald, 1975*). Diese unveränderte GAPDH-Aktivität führen die Autoren auf eine durch Training induzierte vermehrte Energiegewinnung über den Lipidstoffwechsel anstatt über die Glykolyse zurück. Einen GAPDH-Anstieg konnte man jedoch in der Muskulatur kurzdauertrainierter Menschen finden (*Billeter, 1980*).

Die MDH ist sowohl im Zytoplasma als auch in den Mitochondrien zu finden. Bei diesem Enzym wurde in den Muskelproben sämtlicher Probanden, mit Ausnahme des Pferdes Nr. 2 (– 10%), ebenfalls eine Aktivitätssteigerung durch Training gefunden. Die durch Training bedingte Aktivitätssteigerung der MDH stellten auch *Holloszy et al.* (1975) bei Ratten, *Straub et al.* (1976) und *Straub* (1981) beim Pferd fest.

Das mitochondrial gebundene Enzym HAD verhielt sich bei unseren Messungen unterschiedlich. Ausser Pferd Nr. 1 und Nr. 6 zeigten alle Tiere einen HAD-Aktivitätsabfall. Wie schon oben erwähnt, konnten in allen Muskelproben sowohl vor wie nach Training praktisch keine intrazelluläre Fettdepots nachgewiesen werden. Sowohl beim Menschen (*Moesch und Howald, 1975*) als auch beim Pferd (*Straub et al., 1976; Straub, 1981*) wurden in den Muskelbiopsien beim trainierten Individuum höhere HAD-Aktivitäten gemessen als beim untrainierten Individuum. Im Gegensatz dazu konnte *Straub* (1981) im Muskel gut trainierter Rennpferde (2 Minuten Leistungsdauer) eine niedrigere HAD-Aktivität finden als in der Muskulatur untrainierter Pferde. Es ist anzunehmen, dass die HAD-Aktivität beim Pferd stark von der Art des Trainings abhängt.

Der oxydative Abbau des Pyruvats erfolgt über den Pyruvatdehydrogenasekomplex. Das aus der Glykolyse stammende Pyruvat gelangt in die Mitochondrien. Durch das Multienzymsystem des Pyruvatdehydrogenasekomplexes wird Pyruvat über die Zwischenstufe aktiven Acetaldehyds in Acetyl-CoA überführt und in den Zitratzyklus eingeschleust. Die spezifischen Aktivitäten der Pyruvatdecarboxylase verhielt sich bei unseren Messungen unterschiedlich. In unserer Gruppe hatten wir bei 2 von 5 Pferden in den Muskelhomogenaten eine Aktivitätssteigerung der PDC zu verzeichnen, bei Pferd Nr. 6 konnte sowohl vor wie nach Training keine Aktivität gemessen werden. Das unterschiedliche Verhalten dieses Enzyms und die Nullaktivität von Pferd Nr. 6 können wir uns nicht erklären.

*Leistungsvermögen und Trainierbarkeit  
beurteilt anhand der Parameter V4, La550, VMT und verschiedener Enzymaktivitäten  
im Muskelhomogenat*

Ausgehend von der Blutlactatkonzentration nach Belastung und deren trainingsbedingten Veränderungen wurde versucht, einen Zusammenhang zwischen Lactatkonzentration, dem Mitochondrienvolumen und den Aktivitäten der zellulär lokal-

sierten Enzyme GAPDH und MDH zu finden. Daneben wurde auch die HAD-Aktivität berücksichtigt. Beim Betrachten dieser Parameter (Tabelle 7) können folgende Feststellungen gemacht werden: Die beiden Pferde Nr. 1 und Nr. 6 zeigten im Test A die besten V4- und La550-Werte. Pferd Nr. 1 wies zu diesem Zeitpunkt auch den höchsten Mitochondrienvolumenanteil der untersuchten Gruppe auf, und im Muskel beider Pferde konnten wir zu diesem Zeitpunkt die niedrigste GAPDH-Aktivität nachweisen. Pferd Nr. 5 wies im Test A die schlechtesten V4- und La550-Werte auf und gleichzeitig stellten wir die höchste GAPDH-Aktivität fest. Zudem liess sich in den Muskelzellen dieses Pferdes der niedrigste prozentuale VMT-Anteil der ganzen Gruppe beobachten. Die GAPDH-Aktivitäten verhielten sich ähnlich wie sie *Straub et al.* (1976) bei ihren Untersuchungen finden konnten: Die leistungsfähigeren Pferde (Ausdauer) verfügen in ihrer Muskulatur über niedrigere GAPDH-Aktivitäten als die weniger leistungsfähigen Pferde. Nach der vierwöchigen Trainingsperiode zeigte Pferd Nr. 6 den besten V4-Wert, den höchsten Mitochondrienvolumenanteil, die höchsten MDH- und HAD-Aktivitäten und die tiefste GAPDH-Aktivität der Gruppe. Diese Situation würde erneut für die von *Straub* (1981) gefundenen Resultate bezüglich Trainingszustand und Enzymaktivitäten sprechen. Im Widerspruch dazu stehen jedoch die Resultate von Proband Nr. 2, welcher bei guten V4- und La550-Werten die höchste GAPDH-Aktivität aufweist. Bei den Pferden Nr. 3 und Nr. 5 massen wir die schlechtesten V4- und La550-Werte, sie lagen mit ihren VMT-Werten eher tief und zeigten niedrige MDH- und HAD-Aktivitäten.

Die Beziehungen der Werte untereinander lassen vermuten, dass sowohl die enzymologischen als auch die morphometrischen Untersuchungen am M. semitendineus des Pferdes die objektive Beurteilung der oxydativen Kapazität der Muskulatur einzelner Pferde verbessern.

### Zusammenfassende Diskussion der Untersuchungsergebnisse

Unsere Resultate zeigen, dass der Dreistufenbelastungstest zur Interpretation der momentanen Leistungsfähigkeit beim Pferd geeignet ist. Auch die Blutlactatkonzentration erwies sich als zuverlässiger Parameter. Die negative Korrelation zwischen dem trainingsbedingten Abfall der La550 und der VMT-Zunahme bestätigt, dass die Morphometrie eine wertvolle Beurteilungsmöglichkeit für die oxydative Kapazität der Muskelzelle darstellt und somit in Zukunft zur Beurteilung der Trainierbarkeit auf Ausdauerleistungen von Bedeutung sein könnte. Die morphometrische Untersuchung der Einzelfasertypen ergab individuell grosse Unterschiede. Fasertyp I und Fasertyp II reagierten mit einer VMT-Zunahme am deutlichsten auf das Intervalltraining. Das von uns verwendete Biopsiematerial für die Bestimmung der Kapillar- und Fasergrössen scheint, obwohl eine signifikante Erhöhung der Kapillarisation durch Training festgestellt werden konnte, wegen der oft nicht optimal eingehaltenen Schnitttrichtung recht ungeeignet zu sein.

Unsere Resultate bestätigten, dass die Enzymaktivitätsmessungen zwar wertvolle Hinweise zur Beurteilung der Stoffwechsellage in der Muskulatur liefern, jedoch nicht als alleiniges Beurteilungskriterium für die Leistungsfähigkeit dienen können.

Die histochemischen Muskeluntersuchungen zur Beurteilung der trainingsbedingten Veränderungen im Muskel sind beim Pferd wenig zuverlässig, da Biopsie-, Färbe- und Gefrierartefakte relativ häufig vorkommen. Eine Beurteilung der momentanen Leistungsfähigkeit und der Trainierbarkeit von Pferden aufgrund von enzymologischen und morphometrischen Muskeluntersuchungen ist im heutigen Zeitpunkt noch nicht möglich. Die hier beschriebenen Methoden stellen jedoch eine wertvolle Ergänzung der bis anhin üblichen Beurteilungskriterien zur Objektivierung der momentanen Leistungsfähigkeit und Trainierbarkeit der Pferde dar.

### Zusammenfassung

Mit Hilfe von enzymologischen und morphometrischen Untersuchungen am equinen M. semitendineus versucht man, die momentane Leistungsfähigkeit, trainingsbedingte Veränderungen und die Trainierbarkeit der aeroben Kapazität beim Pferd besser zu objektivieren. Für diese Studie dienten uns 6 Halbbluthengste im Alter von 4–5 Jahren, die während vier Wochen einem Intervalltraining unterzogen wurden. Vor und nach der Trainingsperiode wurden die Pferde in einem Dreistufenbelastungstest getestet und die daraus resultierenden Leistungskennwerte (La550 und V4) mit den Muskelveränderungen verglichen. Die histochemischen Muskeluntersuchungen zur Beurteilung der trainingsbedingten Veränderungen im Muskel erachten wir beim Pferd als wenig zuverlässig, da Biopsie-, Färbe- und Gefrierartefakte relativ häufig vorkommen. Die Aktivitätsmessungen der Malatdehydrogenase, der Glycerinaldehyd-3P-Dehydrogenase und der 3-Hydroxyacyl-CoA-Dehydrogenase scheinen wertvolle Hinweise zur Beurteilung der Stoffwechsellage zu liefern. Die morphometrischen Untersuchungen der Einzelfasertypen ergab individuell grosse Unterschiede. Fasertyp I und Fasertyp II reagierten mit einer Mitochondrienvolumenzunahme am deutlichsten auf das Intervalltraining. Das von uns verwendete Biopsiematerial für die Bestimmung der Kapillar- und Fasergrössen scheint, obwohl eine signifikante Erhöhung der Kapillarisation durch Training festgestellt werden konnte, wegen der oft nicht optimal eingehaltenen Schnittrichtung recht ungeeignet zu sein. Die negative Korrelation zwischen dem trainingsbedingten Abfall des Serumlactatpiegels bei definierter Belastung (La550) und der Mitochondrienvolumenzunahme bestätigt, dass die Morphometrie eine wertvolle Beurteilungsmöglichkeit für die oxydative Kapazität der Muskelzelle darstellt und somit in Zukunft zur Beurteilung der Trainierbarkeit auf Ausdauerleistung von Bedeutung sein kann.

### Résumé

Nous essayons d'évaluer d'une façon objective à l'aide d'examen morphologiques et de mesures d'activités enzymatiques dans le muscle semitendineux du cheval, les capacités à un moment donné, les modifications consécutives à l'entraînement, ainsi que la capacité d'entraînement aérobie.

Pour cette étude, nous avons soumis à l'entraînement 6 étalons demisang âgés de 4 et 5 ans, avec une interruption de l'entraînement de 4 semaines. Les chevaux ont été testés au cours d'une épreuve d'endurance composée de 3 niveaux et pratiquée avant et après la période d'entraînement; les performances relevées (La550 et V4) ont été comparées avec les changements constatés au niveau du muscle. L'évaluation des modifications au niveau du muscle, consécutives à l'entraînement, s'est révélée peu fiable chez le cheval, de part la fréquence des artefactes dus à la coloration et à la congélation de la biopsie. La mesure de l'activité enzymatique de malate déhydrogénase, de glyceraldéhyde-3P-déhydrogénase ainsi que du 3-hydroxylacyl-CoA-déhydrogénase, fournit des indications sûres quant à l'évaluation du métabolisme. L'examen morphométrique de chaque type de fibres montra de grandes différences individuelles. Les fibres du type I et II ont réagi le plus distinctement avec une augmentation du volume des mitochondries dans l'intervalle d'entraînement.

Le matériel de biopsie que nous avons utilisé afin de déterminer la dimension des capillaires et des fibres, ne nous semble pas convenir à cause de la direction de coupe souvent pas idéale et malgré une augmentation significative de la capillarisation due à l'entraînement. La corrélation négative

tive entre la baisse du niveau de lactat sérique due à l'entraînement dans des conditions définies (La550) et l'augmentation du volume des mitochondries, représente une bonne méthode d'évaluation de la capacité oxydative de la cellule musculaire et permet de penser qu'à l'avenir elle peut se révéler importante dans l'évaluation de l'état d'entraînement du cheval.

### Riassunto

Si cerca di obiettivare meglio la capacità momentanea di sforzo, le modificazioni dovute all'allenamento, e la allenabilità delle capacità aerobiche del cavallo per mezzo di indagini enzimologiche e morfometriche del muscolo semitendinoso. Per questo studio sono stati utilizzati 6 cavalli mezzosangue dell'età di 4-5 anni che sono stati sottoposti per 4 settimane ad un intervall-training. Prima e dopo il periodo di allenamento i cavalli sono stati sottoposti ad un test articolato in tre fasi e i valori di prestazione atletica risultanti dal test sono stati confrontati con le modificazioni muscolari. Le indagini istochimiche muscolari vengono da noi considerate poco probanti nel cavallo per ciò che attiene il giudizio delle modificazioni muscolari dovute all'allenamento, poichè artefatti dovuti al prelievo, alla colorazione ed al congelamento sono piuttosto frequenti. Utili indicazioni circa la situazione metabolica sembrano provenire dalla misurazione della malatodeidrogenasi, della gliceraldeide-3P-deidrogenasi e della 3-idrossiacil-Co-A-deidrogenasi. Le indagini morfometriche dei singoli tipi di fibre hanno evidenziato grandi differenze individuali. Le fibre di tipo I e 2 hanno reagito nel modo più evidente all'intervall-training, mostrando un evidente aumento dei mitocondri. Il nostro materiale biotico, a causa dell'orientamento spesso non ideale della sezione, è assai poco adatto alla determinazione delle dimensioni dei capillari e delle fibre, nonostante si sia potuto stabilire un significativo incremento della capillarizzazione dovuto all'allenamento. Le correlazioni negative tra la caduta, dovuta all'allenamento, del lattato sierico sotto sforzo definito (La550) e l'aumento del volume mitocondriale, conferma che la morfometria rappresenta un valido criterio di valutazione della capacità ossidativa della fibra muscolare e con ciò può entrare in considerazione nel futuro per la valutazione dell'allenabilità allo sforzo prolungato.

### Summary

Enzyme activity measurements, histochemistry and an ultrastructural morphometric analysis have been carried out on *M. semitendineus* of 6 «half bred» stallions before and after training. The aim of the study was to find out whether the different methods to analyse skeletal muscle tissue would allow an objective assessment of the working capacity and of the ability of horses to be trained. To objectify the muscle analysis the horses had been tested in a three work loads test before and after the training periods. The specific training for «novice eventing» consisted of three intervals of three minutes duration with maximal alactic workload twice weekly. The results of the muscle analyses are compared with performance values (La550; V4) which are derivable from the steady state pulse rate, bloodlactate and speed. There was a remarkable increase of the volume density of mitochondria (VMT) in the overall muscle, also especially in fibre type I and type IIA, the capillary to fibre ratio, and of the activity of several enzymes (glyceraldehyde-3P-dehydrogenase, malate-dehydrogenase and 3 hydroxylacyl-CoA-dehydrogenase) after the training periods. A correlation of these parameters with serum lactate and the pulse rate was found. In particular we found a significant negative correlation between the increase of VMT in *M. semitendineus* and the decrease of serum lactate after a standardised 3 minutes workload (speed: 550 m/min). We consider the morphometry of the mitochondrial compartment of skeletal muscles and the measurement of some enzymes of the aerobic pathway to be sufficiently sensitive methods to allow an assessment of the aerobic working capacity in horses.

### Literaturverzeichnis

- Bergström J.*: Percutaneous Needle Biopsy of Skeletal Muscle in Physiological and Clinical Research. *Scan. J. Clin. Lab. Invest.* 35, 609-616 (1975). – *Billeter R.*: Persönliche Mitteilungen (1980). – *Claassen H., Hoppeler H., Straub R. and Weibel E.R.*: Correlation of histochemistry and



quantitative ultrastructure of muscle fibres in skeletal muscles. *J. of Physiol.* 318, 38 (1980b). – *Dettwiler M.*: Mündliche Mitteilung (1981). – *Ellenrieder G., Kirschner K. and Schuster I.*: The binding of oxidized and reduced Nicotinamide Adenine-Dinucleotide to yeast Glyceraldehyde-3-Phosphate. *Eur. J. Biochem.* 26, 220–236 (1972). – *Essén B., Lindholm A. and Thornton J.*: Histochemical properties of muscle fibre types and enzyme activities in skeletal muscles of Standardbred trotters of different ages. *Eq. Vet. J.* 12, 175–180 (1980). – *Hartree E.F.*: Determination of Protein: A modification of the lowry method that gives a linear photometric response. *Anal. Biochem.* 48, 422–427 (1973). – *Holloszy J.O., Booth F.W., Winder W.W. and Fitts R.H.*: Biochemical adaptation of skeletal muscle to prolonged physical exercise. In: *Biochem. adapt. of skeletal muscle to prolonged physical exercise* 438–447. Eds.: Howald H. and Poortmans J.R. Birkhäuser Basel (1975). – *Hoppeler H., Lüthi P., Claassen H., Weibel E.R. and Howald H.*: The ultrastructure of the normal human skeletal muscle. A morphometric analysis on untrained men, women and well-orientees. *Pflügers Arch.* 344, 217–232 (1973). – *Hoppeler H., Mathieu O., Weibel E.R., Krauer R., Linstedt St.L. and Taylor C.R.*: Designs of the mammalian respiratory system. VIII. Capillaries in skeletal muscles. *Respiration Physiol.* 44, 129–150 (1981). – *Howald H., Jaberg H., Jenours P., Schiffer J., Schilling G., Schmidt P., Schönholzer G., Segesser B. und Weiss V.*: Script Eidg. Turn- und Sportschule Magglingen (1975). – *Kun E.*: «The Enzymes». In: P.D. Boyer, Lardy H.A. and Myröck, «The Enzymes». Acad. Press New York London 7, 149 (1963). – *Lindholm A., Bjeeneld H. and Saltin B.*: Glycogen depletion pattern in muscle fibre of trotting horses. *Acta Physiol. Scand.* 90, 475–484 (1974). – *Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L. and Randall R.J.*: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193, 265–275 (1950). – *Lynen F. and Wieland O.*: In: *Methods in Enzymology*, Bd. 1 566–571. Eds.: Colowick S.P. and Kaplan N.O., Acad. Press New York, London (1955). – *Moesch H. and Howald H.*: Hexokinase (HK), Glycerinaldehyd-3-PDH (GAPDH) Succinate-OH (SDH) and 3-Hydroxyacyl-CoA-DH (HAD) in skeletal muscle in trained and untrained men. In: *Metabolic adaptation to prolonged physical exercise* 463–465. Eds.: Howald H. and Poortmans J.R. Birkhäuser Basel (1975). – *Noll F.*: Bestimmung mit LDH, GPT und NAD. In: *Methoden der enzym. Analyse*. Ed.: Bergmeyer H.U. 3. Aufl., Band II, 1521–1525, Verlag Chemie, Weinheim (1974). – *Padykula H.A. and Herman E.*: The specificity of the histochemical method for ATP-ase. *J. Histochem. Cytochem.* 3, 161–169 (1955a). – *Padykula H.A. and Herman E.*: Factors affecting the activity of ATP-ase and other phosphatases as measured by histochemical techniques. *J. Histochem. Cytochem.* 3, 170–195 (1955b). – *Singer T.P. and Pensky J.*: Isolation and Properties of the  $\alpha$ -Carboxylase of Wheat Germ. *J. Biol. Chem.* 196, 375–388 (1952). – *Snow D.H. and Guy P.S.*: The effects of training and detraining on several enzymes in horse skeletal muscle. *Arch. Internat. Physiol. Bioch.* 87, 87–93 (1979). – *Straub R., Howald H., Gerber H. and Pauli B.*: Ultrastrukturelle und enzymat. Untersuchungen an trainierten und untrainierten Pferdeskelettmuskeln. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 117, 453–457 (1975). – *Straub R., Howald H. and Weber S.*: Ultrastructural and biochemical changes in equine skeletal muscle due to exercise. Proc. of the third meeting of the academic society for large animals vet. med. 103–110. Ed.: *Vet. Physiol. Zurich* (1976). – *Straub R.*: Das Leistungsvermögen des Sportpferdes. Untersuchungen am M.semitendineus des Pferdes. *Habil. schrift Med. Vet. Bern* (1981). – *Ullrich J., Wittorf J.H. and Gubler C.J.*: Molecular Weight and Coenzyme Content of Pyruvate Decarboxylase from Brewer's Yeast. *Biochem. Biophys. Acta* 113, 596–604 (1966). – *Utter F.M.*: Nonoxidative Carboxylation and Decarboxylation. In: *The Enzymes*, Bd. 5, 320–340. Eds.: Boyer P.D., Lardy H. and Myröck K. Acad. Press New York (1961). – *Velick S.P., Furfine Ch.*: Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase. In: *The Enzymes*, Bd. 7, 243–273. Eds.: Boyer P.D., Lardy M. and Myröck K. Acad. Press New York (1963). – *Weibel E.R.*: Stereological principles for morphometry in electron microscopic cytology. *Int. Rev. Cytol.* 26, 235–303 (1969). – *Wolfe R.G. and Neilands J.B.*: Some molecular and kinetic properties of heart Malic Dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* 221, 61–69 (1956). – *Wu R. and Racker E.*: Regulation mechanisms in carbohydrate metabolism. III. Limiting factors in glycolysis of ascites tumor cells. *J. Biol. Chem.* 234, 1029–1035 (1963).